

## DETERMINACION DE LA MARCHITEZ BACTERIANA CAUSADA POR

*Pseudomonas solanacearum* E.F. SMITH EN PAPA<sup>1</sup>

Identification of bacterial wilt, caused by *Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith., in potato in Chile

Carmen Fernández M.<sup>2</sup>

### SUMMARY

Potato tubers showing vascular discoloration and bacterial ooze were observed at Lonquén, near Santiago, in May 1982. Plants grown from these tubers showed wilting and chlorosis.

*Pseudomonas solanacearum* was consistently isolated from tubers and diseased plants. Potato leaves, tubers and plants, and tomato plants developed the symptoms when artificially inoculated by different methods. The bacterium was reisolated from the infected materials.

Bacterial wilt of potato, caused by *Pseudomonas solanacearum*, is reported for the first time in Chile.

Al hacer una prospección en la Región Metropolitana sobre enfermedades de papa, en mayo de 1982, se encontraron en la localidad de Lonquén, tubérculos que al cortarlos presentaban una descoloración en el sistema vascular y al presionarlos ligeramente con los dedos desprendían una exudación bacteriana de color blanco-grisáceo. El 6,40/o de 1.377 tubérculos presentaron los síntomas descritos.

#### Aislamiento de la bacteria

De los tubérculos enfermos se extrajo exudado bacteriano, que se sembró en los siguientes medios de cultivo: 523 (Kado y Heskett, 1970), medio general para bacterias; D2 (Kado y Heskett, 1970), medio selectivo para *Corynebacterium* sp; y Kelman TzC (Kelman, 1954), medio específico para separar colonias patogénicas y no patogénicas de *Pseudomonas solanacearum*. En el medio 523 se desarrollaron abundantes colonias de color crema; en el D2 no creció ningún tipo de colonia; y en el Kelman TzC se desarrollaron colonias, con el centro rosado y con borde irregularmente redondeado, de color blanco grisáceo. Al mirar

las colonias al microscopio estereoscópico se observaron cordones rosados concéntricos o en espiral, en el centro de la colonia.

#### Identificación de la bacteria

Cepas de la bacteria fueron enviadas al Centro Internacional de la Papa (CIP) para su identificación.

Simultáneamente, se efectuó, en laboratorio, la tinción de Gram, resultando ser la bacteria Gram-negativa, y, en invernadero, se sembraron tubérculos enfermos en suelo estéril, de donde se obtuvieron plantas con síntoma de marchitez. Al cortar trozos de tallo de estas plantas, se observó la presencia de gotitas brillantes, de color blanco grisáceo, que salían de la zona vascular. Al poner en contacto las superficies de dos trozos de tallo infectados y luego separarlos lentamente, se formaban hilos delgados de mucosidad. Ambas características son valaderas para diagnosticar la presencia de *Pseudomonas solanacearum* (Hooker, 1980), bacteria que también fue identificada por CIP, indicando que correspondía a la Raza 3, Biovar 2.

#### Prueba de patogenicidad

En plantas de papa: Se usaron dos métodos de inoculación. Tres plantas se inocularon colocando un mon-

<sup>1</sup> Recepción de originales: 18 de abril de 1984.

<sup>2</sup> Estación Experimental La Platina (INIA), Casilla 5427, Santiago, Chile.

dadientes, impregnado en exudación bacteriana, atravesado en el tallo, bajo la última hoja basal. A otras tres se les colocó una gota de la suspensión de la bacteria en la axila de la tercera hoja, a la cual se le había hecho una herida previamente. En ambos casos se usaron testigos.

A los 19 días aparecieron síntomas de marchitez y clorosis en las plantas inoculadas con el primer método; en cambio con el segundo, estos síntomas aparecieron a los 15 días.

En ambos casos, al cortar un trozo de tallo y colocarlo en un tubo con agua, se observó el flujo bacteriano saliendo de la zona vascular. Al hacer aislaciones de este flujo bacteriano en medio Kelman TZC, se desarrollaron colonias rosadas con borde blanco, características de *P. solanacearum*. Los testigos no mostraron ningún síntoma.

**En hojas de papa:** Cepas aisladas de tubérculos enfermos se diluyeron en 10 cc de agua. En cada dilución se colocó una hoja de papa compuesta de tres folíolos. Como testigo se usó agua. A los 14 días los folíolos presentaron amarillez intervenal y marchitez. Al cortar trozos de pecíolo se observaron áreas necróticas en la zona vascular, de donde salían gotitas de color blanco, correspondiente a la exudación bacteriana. Al hacer cultivos en medio Kelman TZC, se desarrollaron colonias rosadas, con borde blanco, características de *P. solanacearum*.

Las hojas de los testigos colocados en agua, mantuvieron el color verde y no presentaron marchitez. La zona vascular de los pecíolos presentaron coloración normal y no se observó exudación bacteriana.

**En tubérculos de papa:** Se usaron dos métodos de inoculación. A cuatro tubérculos se les hizo un corte longitudinal sin cortarlos totalmente, se les frotó la superficie con cultivo de la bacteria y se amarraron con elástico. Otros cuatro se pincharon varias veces con un mondadientes impregnado con cultivo de la bacteria. En los testigos se usó agua. Los tubérculos se guardaron en bolsas plásticas, a 28° C.

A los 25 días se observó una pudrición blanda, en tres de los tubérculos que se habían inoculado frotando la bacteria. Al hacer cortes más profundos, se encontró descoloración en la zona vascular y exudación bacteriana. Al hacer aislaciones en medio Kelman TZC, se desarrollaron las colonias típicas de *P. solanacearum*. Los tubérculos que se pincharon con mondadientes, así como los testigos, no desarrollaron ningún tipo de pudrición.

**En plantas de tomate:** Se inocularon seis plantas de tomate, de 15 cm de alto, colocando una gota de la suspensión de la bacteria en la axila de la tercera hoja, a la que se le había hecho una herida previamente. La suspensión se preparó a partir de tejido enfermo de tubérculo.

A los 20 días, una planta presentó síntoma de marchitez. Al cortar el tallo, la zona vascular presentaba áreas necrosadas y pequeñas gotas de exudación bacteriana. Al colocar un trozo de tallo en agua se observó el flujo bacteriano, el que al pasarlo a placas con medio Kelman TZC, desarrolló colonias características de *P. solanacearum*.

El resto de las plantas mostraron epinastia y formación de raíces adventicias, síntomas que presenta el tomate al estar infectado con *Pseudomonas solanacearum*, especialmente cuando la temperatura no es muy alta (Dr. E. French, CIP, comunicación personal). Los testigos no presentaron síntomas.

### Conclusiones

La sintomatología observada en los tubérculos encontrados en bodega y en las plantas desarrolladas a partir de estos tubérculos, las pruebas de laboratorio y de patogenicidad efectuadas en plantas, hojas y tubérculos de papa y plantas de tomate, realizadas en la Estación Experimental La Platina, y la identificación hecha de la bacteria por CIP, son pruebas concluyentes para demostrar que el organismo causal de esta enfermedad es *Pseudomonas solanacearum*, siendo ésta la primera vez que se determina su presencia en Chile.

### LITERATURA CITADA

HOOKE, W.J. 1980. Compendio de enfermedades de la papa. Centro Internacional de la Papa. 166 p.

KADO, C.I. and HESKETT, M.G. 1970. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Xantomonas*. *Phytopathology* 60: 969–976.

KELMAN, A. 1954. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. *Phytopathology* 44: 693–695.